

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie



Petra Mušálková

Adaptivní funkce odpočívajících stádií řas s důrazem na stomatocysty zlativek

Adaptive functions of algal resting stages with emphasis on the chrysophyte stomatocysts

Typ závěrečné práce:

Bakalářská práce

Vedoucí práce/Školitel: doc. RNDr. Yvonne Němcová, Ph.D.

Praha, 2017

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně, a že jsme uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 11.5. 2017

Petra Mušálková

Poděkování

Na tomto místě bych velmi ráda poděkovala své školitelce doc. RNDr. Yvonne Němcové, Ph.D. za její pomoc a vedení při sepisování této bakalářské práce. Je pro mne velkou inspirací a vždy mi dokázala ochotně poradit. Také bych chtěla poděkovat Mgr. Pavlu Škaloudovi, Ph.D. a doc. RNDr. Jiřímu Neustupovi Ph.D. za jejich nekončící nadšení. Mé díky patří také ostatním kolegům a kamarádům z algologického oddělení za vytvoření přátelského pracovního prostředí.

Abstrakt

Tvorba odpočívajícího stádia je velmi častou schopností většiny tříd řas. Primárně je toto stádium považováno za odolnou formu, která pomáhá organismu přežít nepříznivé podmínky nebo rychle měnit se prostředí. Ovšem může sloužit také k šíření, jako semenná banka pro rekolonizaci habitatu nebo může být zdrojem genetické variability, pokud následuje po pohlavním rozmnožování. Význam tohoto odpočívajícího bentického stádia roste u řas, jejichž populační růst je sezonní. Mezi organismy se sezónním výskytem patří například obrněnky a zlativky. Odpočívající stádia zlativek se nazývají stomatocysty, vznikají endogenně a jsou tvořeny polymery oxidu křemíku. Stomatocysty mají unikátní morfologii, která je druhově specifická. U většiny popsanych zástupců Chrysophyceae není morfologie stomatocyst vůbec známá. Druhové určování ztěžuje především rychlé střídání dominantních druhů zlativek v přírodě. Doposud také není jasné, které faktory vyvolávají encystaci a excystaci. Na toto téma bylo provedeno několik laboratorních experimentů a prozatím se dá předpokládat, že encystaci a excystaci indukuje kombinace vnějších i vnitřních podnětů. Stomatocysty vznikají po pohlavním rozmnožování nebo z vegetativních buněk a zachované v sedimentu mohou sloužit jako indikátor klimatických podmínek v minulosti.

Klíčová slova: zlativky, odpočívající stádia, stomatocysta, encystace, excystace

Abstract

Formation of resting stages is a very common feature occurring in most algae classes. Primarily this stage is considered as a resistant form that helps the organism to survive adverse conditions and rapidly changing environment. However, it may also serve to spread as a seed bank to recolonize habitat or can be a source of genetic variation if it follows sexual reproduction. The importance of this dormant benthic stage grows with algae whose population growth is seasonal and the formation of cysts or spores is crucial for them, for instance dinoflagellates and golden algae. Resting stages of Chrysophyceae are called stomatocysts they are produced endogenously and are composed of polymerized silica. Stomatocysts have species-specific morphology. For most described species of Chrysophyceae morphology of the stomatocyst is unknown. Determining the species is difficult especially because of rapid alternation of chrysophyte dominant species in natural waterbodies. So far, it has not been elucidated what factors cause encystation and excystation. Several laboratory experiments has been conducted on this subject. The process of encystation and excystation is assumed to be induced by combination of external and internal factors. Stomatocysts may developed after sexual reproduction or from vegetative cells. Stomatocysts stay preserved in the sediment for prolonged period of time and may serve as an indicator of past climatic conditions.

Key words: chrysophytes, resting stages, stomatocyst, encystation, excystation

Obsah

1. Úvod	1
2. Charakteristika odpočívajícího stádia	2
2.1. Adaptivní funkce	2
2.2. Abiotické a biotické podmínky	3
3. Chrysophyceae (Stramenopila, SAR)	4
3.1. Základní charakteristika	4
3.2. Klasifikace zlativek	4
3.3. Výživa a ekologie	6
3.3.1. Výživa chrysofyt	6
3.3.2. Ekologie chrysofyt	6
4. Stomatocysty (odolné stádium chrysofyt)	7
4.1. Morfologická variabilita stomatocyst	8
4.2. Klasifikace stomatocyst	11
5. Pohlavně a nepohlavně vzniklé cysty	12
5.1. Životní cyklus chrysofyt	12
5.2. Pohlavní vznik stomatocyst	13
5.3. Nepohlavní vznik stomatocyst	14
6. Encystace a excystace chrysofyt	15
6.1. Proces encystace popsáný na základě elektronové mikroskopie	15
6.2. Encystace a podmínky, které ji ovlivňují	19
6.3. Životaschopnost cyst a excystce	20
7. Využití stomatocyst v paleoekologii	22
8. Studium silifikace, PDMPO	23
9. Závěr	24
10. Literatura	26

1. Úvod

Cílem této bakalářské práce je shrnout publikované informace o funkci odpočívajících stádií formovaných řasami a podrobněji se zaměřit na stomatocysty zlativek (*Chrysophyceae*). Tvorba rezistentního odpočívajícího stádia je zásadní pro přežití mnohých populací řas. Nejedná se pouze o strategický únik před nepříjemnými změnami vnějších podmínek. Odpočívající stádium je pevnou součástí životního cyklu u sezónně se vyskytujících řas. Takovými jsou právě zlativky. Jejich odpočívající stádium se nazývá stomatocysta. Stomatocysty mají specifickou morfologii a jejich způsob vzniku je velmi flexibilní, protože mohou vznikat pohlavním i nepohlavním rozmnožováním. Avšak o procesu encystace a podmínkách, které tento proces indukují, toho víme velmi málo. Neprobádanou oblastí je také míra rezistence těchto stádií, například vůči vyschnutí, velkým výkyvům teploty nebo vůči změnám pH. Ovšem to jsou už otázky vhodné k zodpovězení v diplomové práci.

V první části této práce je popsáno odpočívající stádium jako jedno ze strategií přežití nepříznivých podmínek. Dále se zaměřím na třídu *Chrysophyceae*, její zařazení do systému a ekologii. Zbývá část práce je věnována stomatocystám, jejich morfologii, způsobu vzniku pohlavní a nepohlavní cestou. Shrnu dosavadní informace o vlivu podmínek vnějšího prostředí na encystaci a excystaci. Samostatná kapitola popisuje dynamiku tvorby cysty na základě elektronmikroskopického pozorování a zhodnoceno také využití chrysofytních stomatocyst v paleoekologii.

2. Charakteristika odpočívajícího stádia

Mnohé skupiny řas si během evoluce vyvinuly účinnou strategii přežití, a tou je tvorba odpočívajícího rezistentního stádia. Toto stádium je nejčastěji nazýváno cysta nebo spora. Je charakterizováno ztloustlou buněčnou stěnou a sníženou mírou metabolické aktivity, což činí řasu odolnou vůči nepříznivým nebo extrémním podmínkám, se kterými by se vegetativní buňka nedokázala vypořádat (Sandgren, 1983). Cysty vznikají po pohlavním i nepohlavním rozmnožování. Nejvýznamnější skupiny řas tvořící spory jsou Bacillariophyceae, Chlorophyceae, Chrysophyceae, Cryptophyceae, Dinophyceae, Euglenophyceae, Prymnesiophyceae a Cyanophyta. Každá z těchto skupin řas tvoří jedno nebo více rezistentních stádií a toto stádium je pro ni morfologicky unikátní (Fritsch, 1948; Davis, 1972; Fryxell, 1983).

Odpočívající stádium je běžně součástí životního cyklu řas, které mají sezonní výskyt. Podmínky, jež jsou pro ně vhodné, trvají pouze krátkou dobu v roce, a tak dochází k rychlému růstu a střídání dominantní druhů. Populace velmi rychle rostou až do doby, kdy jsou chemické a fyzikální podmínky habitatu za fyziologickou toleranci vegetativních buněk. Populace může být také silně oslabována nákazou viry či houbovými parazity. Sezonní model růstu je úspěšný, pouze pokud řasa tvoří rezistentní stádium, které přečkává v sedimentu a obnoví populaci vegetativních buněk v příštím sezonním cyklu (Sandgren, 1983).

2.1. Adaptivní funkce

Během evoluce se u některých řas vyvinulo odpočívající stádium jako nástroj ke krátkodobému nebo dlouhodobému přežití (McQuoid & Hobson, 1996). Ovšem klidová stádia slouží také k šíření v prostoru a čase. Tvoří semenné banky v sedimentu, kde slouží jako zdroj pro obnovu populace vegetativních buněk ve vodním sloupci. A pokud jsou cysty tvořené po pohlavním rozmnožování, slouží jako zdroj genetické variability. Tvorba klidového stádia se tedy zdá být jednou ze základních významných dovedností. Má velký vliv na evoluční dynamiku a může být prostředkem podporujícím biodiverzitu. (McQuoid & Hobson, 1995, 1996; Rengefors & Anderson, 1998; Rengefors et al., 1998).

Tato strategie má ale také své nevýhody. Vegetativní buňka musí vynaložit velkou energii, aby udržela metabolismus v dormantním stavu po delší dobu. Hodně energie je také potřeba na reorganizaci buňky a samotné tvorby cysty, která se často morfologicky velmi liší

od vegetativní buňky. Po dobu encystace v sedimentu, přichází buňka o další možnost se rozmnožit, populace tak ztrácí potencionální nové jedince (Sandgren, 1983).

Za primární adaptivní funkci odpočívajícího stádia považujeme vyhnutí se nepříznivým podmínkám prostředí. Při podrobnějším pohledu zjistíme, že nepříznivé podmínky zahrnují velké množství podnětů, které mohou hrát roli při tvorbě cyst i jejich následném vyklíčení (Rengefors & Anderson, 1998).

2.2. Abiotické a biotické podmínky

Početnost populace řas v planktonu je ovlivňována mnoha faktory prostředí. Abiotické podmínky jsou chemické a fyzikální charakteristiky prostředí a vegetativní buňka řasy toleruje jejich určité rozmezí. Jestliže se podmínky vychýlí za hranice tolerance, možný mechanismus, jak se tomu bránit, je tvorba odolného stádia. Odolné stádium vykazuje vlastnosti, které dovolují přežít toto nepříznivé období. Abiotické faktory mající vliv na tvorbu cyst jsou změny kvality a periodicity světla, změny teploty, tlaku, pH, salinity a změny koncentrace živin (dusík, fosfor, CO₂, hořčík, křemík a další) (Davis et al., 1980; Reynolds, 1984; Sandgren, 1983a).

Stejně významným spouštěčem tvorby odolného odpočívajícího stádia jsou biotické faktory. Jedná se o interakce mezi organismy, mezidruhové a vnitrodruhové, i vnitřní biologické hodiny organismu. Například obrněnky (Dinophyceae) jsou schopné reagovat na přítomnost zooplanktonu a encystací se tak vyhnou predatnímu tlaku (Rengefors et al., 1998). Některé zlativky a obrněnky encystují ve finálním stádiu květu, nebo to může být reakce na vysokou hustotu populace vlastního druhu (Eren, 1969). McQuoid & Hobson (1996) formulovali teorii, která říká, že pokud hrozí vyčerpání živin, řasy se snaží zabránit úhynu populace právě tvorbou odpočívajícího stádia. V těchto případech je encystace vyvolána vnitřním podnětem. Vnitřní biologické hodiny hrají úlohu také v načasování klíčení cyst (Rengefors & Anderson, 1998; Rengefors et al., 1998).

3. Chrysophyceae (Stramenopila, SAR)

3.1. Základní charakteristika

Třída Chrysophyceae je řazena do Stramenopila (Patterson, 1989), (dříve Heterokontofyta). Do Stramenopila patří jak autotrofové, tak heterotrofové. Jejich společným znakem je buňka se dvěma bičíky, jedním předním s tripartitními tuhými tubulárními mastigonematy a jedním zadním hladkým bičíkem. Patří sem i druhy u nichž došlo k sekundární ztrátě jednoho nebo obou bičíků. Název Stramenopila je mladší synonymum pro Heterokonta (Cavalier-Smith & Chao, 2006).

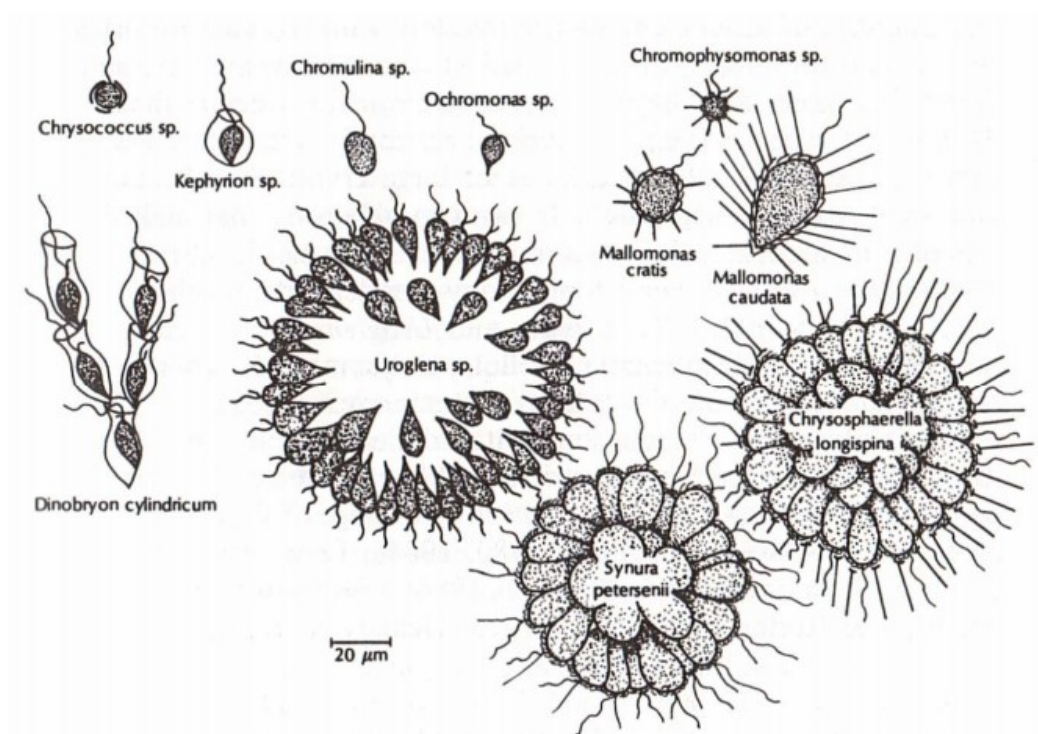
Zástupci třídy Chrysophyceae mají fotosyntetické barvivo chlorofyl *a*, *c₁* a *c₂* (Andersen & Mulkey, 1983) a karotenoid fukoxanthin, který způsobuje jejich zlatavé zbarvení. Mají dva bičíky, které svírají úhel 90 stupňů. Na kratším bičíku je fotoreceptor. Stigma se nachází v přední části chloroplastu. V apikální části buňky je kontraktilní vakuola, v zadní části je váček se zásobní látkou chrysolaminarinem (Lee, 2008). Chloroplast u fotosyntetizujících zástupců je obklopen 4 obalnými membránami, 3. a 4. membrána tvoří periplastidiální endoplazmatické retikulum. Buňky mohou být pokryty křemičitými šupinami. Existují jako samostatné buňky nebo tvoří kolonie (Sandgren, 1988).

3.2. Klasifikace zlativek

V nedávné minulosti byla z třídy Chrysophyceae vyčleněna třída Synurophyceae jako její sesterská skupina. Učinil tak Andersen (1987) na základě odlišnosti bičíkového aparátu. Na rozdíl od zástupců třídy Chrysophyceae, kteří mají bazální tělíska bičíků umístěné kolmo na sebe, zástupci třídy Synurophyceae je mají v paralelním uspořádání. Dále se Synurophyceae liší tím, že nemají chlorofyl *c₂* (Andersen & Mulkey, 1983), mají bilaterálně souměrné šupiny, fotoreceptory u báze obou bičíků a nemají stigma (Lee, 2008). Ale na molekulární úrovni se od sebe tyto dvě třídy příliš neliší (Andersen, 1999). Později bylo odhaleno, že k absenci chlorofylu *c₂* došlo sekundární ztrátou a změna postavení bazálních tělísek bičíků je sekundárním zjednodušením, ke kterému došlo během evoluce (Cavalie-Smith & Chao, 2006). V současnosti probíhá návrat k řazení třídy Synurophyceae, tj. řádu Synurales do třídy Chrysophyceae (Cavalie-Smith & Chao, 2006; Scoble & Cavalier-Smith, 2014).

Do třídy Chrysophyceae náleží 9 řádů: Ochromonadales, Chromulinales, Apoikiida, Hydrurales, Hibberdiales, Segregatales, Synurales, a Paraphysomonadida (rekonstruováno na základě analýzy SSU rDNA a rbcL sekvencí) (Kristiansen & Škaloud, 2016).

Mezi hojně se vyskytující zástupce patří *Ochromonas* a *Chromulina*, tyto zástupci tvoří nahé jednobuněčné formy. Nahé buňky tvořící kolonii mají zástupci rodu *Uroglena*. *Mallomonas* a koloniální *Synura* mají bičíkaté buňky pokryté křemičitými šupinami, popřípadě ostny (u rodu *Mallomonas*). *Dinobryon* a *Chrysococcus* mají buňky obklopené lorikou (Sandgren, 1988). Kromě výše zmíněných forem patří do chrysofyt také amébovití zástupci, jako je *Chrysamoeba* (Kristiansen & Škaloud, 2016). Příklad zástupce, u kterého došlo k sekundární ztrátě chloroplastu, je *Spumella*.



Obr. 1: Ukázka morfologické diverzity chrysofyt. Planktonní druhy jsou zde rozděleny podle pokryvu buněk: vlevo zástupci s lorikou, uprostřed nahé buňky obaleny pouze membránou, vpravo zástupci s křemičitými šupinami (Sandgren, 1988).

3.3. Výživa a ekologie

3.3.1. Výživa chrysofyt

Výživa u zlativek může být autotrofní, heterotrofní i mixotrofní. Mixotrofie je další významnou strategií přežití, kromě tvorby stomatocyst, kterou se chrysofyta vyznačují. Dokáží přepínat mezi autotrofií a fagotrofií podle potřeb buňky vůči podmínkám prostředí. Toto jim umožňuje velkou flexibilitu ve výživě. Mohou čerpat živiny organického původu, pokud dojde k zastínění, při kterém už nejsou schopna účinně provádět fotosyntézu. Při několika laboratorních experimentech se dokonce ukázalo, že pokud *Ochromonas* fagocytuje bakterie, roste rychleji, než při autotrofním růstu na anorganickém médiu (Sandgren, 1988; Zhang & Watanabe, 2001; Holen, 2010). Schopnost pozřít mikroorganismy je pravděpodobně stejná u pigmentovaných i nepigmentovaných chrysofyt (Zhang et al., 1996), ale fagotrofie nejsou schopni zástupci Synurales (dříve Synurophyceae), kvůli stavbě jejich bičíkového aparátu.

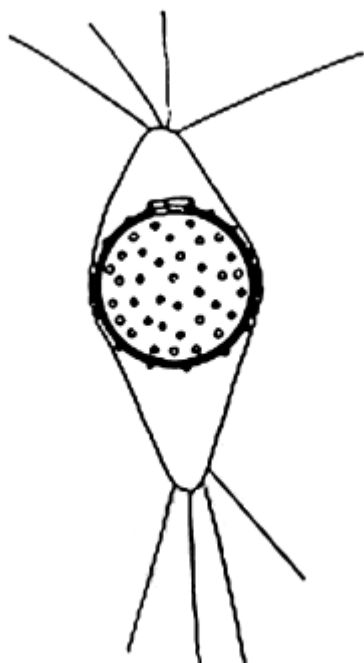
3.3.2. Ekologie chrysofyt

Většina druhů chrysofyt jsou sladkovodní řasy, které tvoří dominantní skupinu fytoplanktonu v jezerech. Jsou ovšem i mořské druhy. Vyskytují se spíše v jezerech s neutrálním nebo lehce kyselým pH a nízkou produktivitou. Jsou dobrými kompetitory v prostředí s nízkou koncentrací fosforu. Růst populace chrysofyt je limitován především vysokým pH, sníženou dostupností CO₂ a predací zooplanktonem. Jejich výskyt je sezónní. Model dynamiky růstu populací chrysofyt by mohl vypadat takto: na začátku jara dochází s rychlým růstem populace a záhy k rychlému poklesu abundance, následuje letní maximum ostatního fytoplanktonu a na podzim se opět zvyšuje populace chrysofyt (Sandgren, 1988). Zlativky produkují charakteristický rybí zápach, pokud se jich na lokalitě vyskytne mnoho najednou. Tento zápach je způsoben hojným vylučováním ketonů a aldehydů (Collins & Kalnins, 1972). Nepříznivé podmínky přečkávají ve formě křemičitých stomatocyst.

4. Stomatocysty (odolné stádium chrysofyt)

Společným znakem zlativek je tvorba charakteristického odpočívajícího stádia, které se nazývá stomatocysta, nebo statospora. Toto stádium je součástí jejich životního cyklu a je klíčové pro úspěch sezonně vyskytujících se populací zlativek. Stomatocysty vznikají jako výsledek pohlavního i nepohlavního rozmnožování. Po encystaci klesají do sedimentu, kde jsou zachovány do dalšího sezonního cyklu (Sandgren, 1988). Stomatocysty uložené v sedimentu mohou sloužit, podobně jako křemičité šupiny nebo schránky rozsivek, k získávání informací o klimatických podmínkách v minulosti (Adam & Mahood, 1981; Smol, 1988).

Stomatocysty mají křemičitou stěnu a vznikají endogenně. Nejčastěji jsou kulovitěho nebo vejčitého tvaru, mají jeden pór, který může být obklopený límečkem a pokud je cysta životaschopná, je pór vyplněn organickou zátkou. Povrch stomatocyst může být hladký, ornamentovaný nebo s ostny. Morfologie stomatocyst je do jisté míry druhově specifická, v rámci jednoho rodu lze nalézt velmi odlišné morfotypy. Morfologická diverzita je převážně určena ornamentací cyst a tvarem límečku (Hibberd, 1977; Duff et al., 1995; Wilkinson et al., 2001).



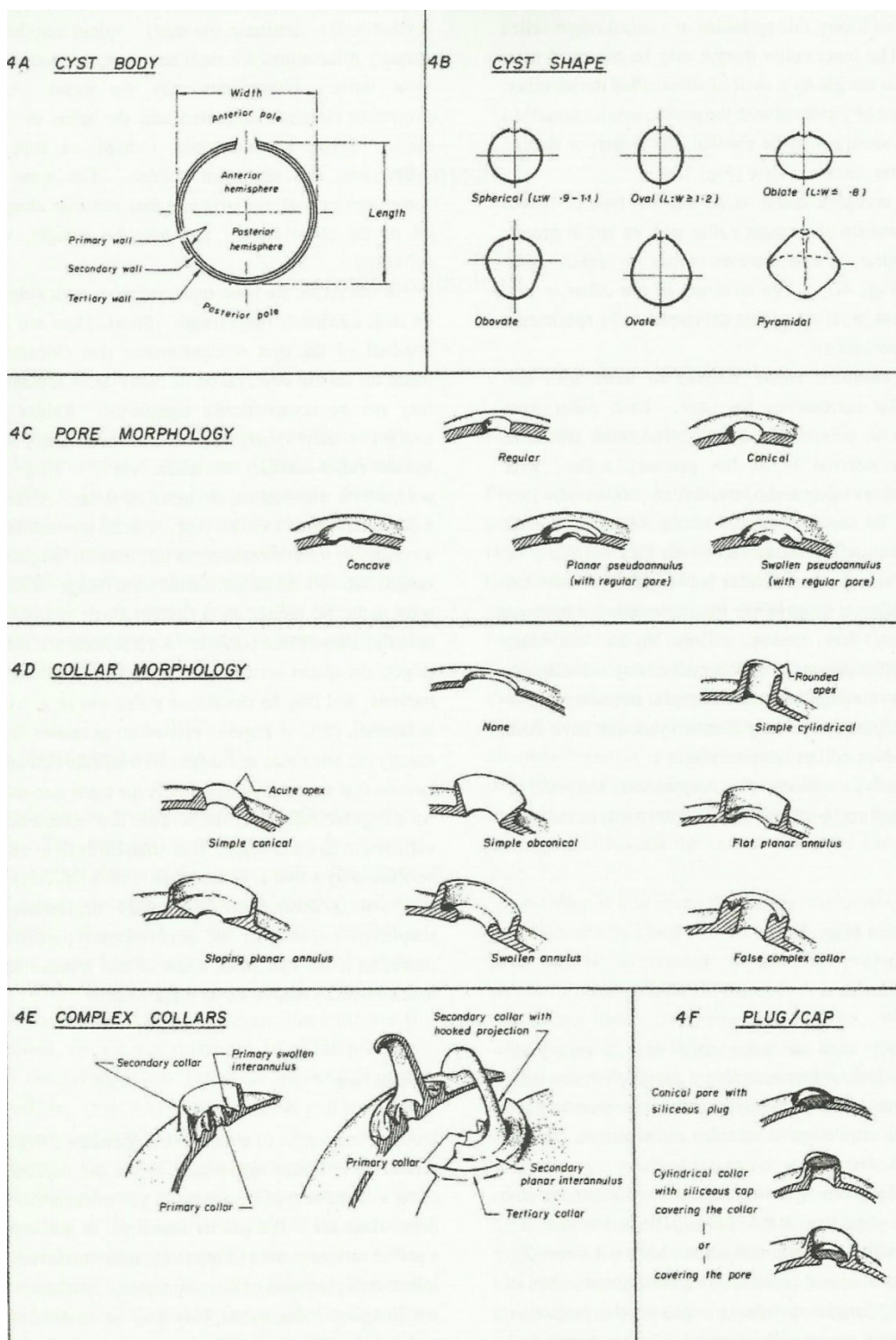
Obr. 2: Endogenně vytvořená stomatocysta *Mallomonas teilingii* v šupinaté schránce (Kristiansen & Škaloud, 2016).

4.1. Morfologická variabilita stomatocyst

Jedním z důvodů, proč jsou stomatocysty zlatívkem předmětem zájmu biologů, je jejich morfologie, která je unikátní mezi odpočívajícími stádii ostatních řas. Stomatocysty mají obrovskou morfologickou diverzitu, která dosahuje až na úroveň druhů. Variabilita morfologických znaků však není dána pouze geneticky. Je ovlivněna i enviromentálními podmínkami, které na řasu působí během encystace (Sandgren, 1983a), což ztěžuje klasifikaci stomatocyst.

Cysty chrysofyt jsou kulovitěho nebo oválného tvaru s jedním pórem, kterým buňka při excystaci vylézá ven. Velikost cyst se v průměru pohybuje od 2 μm do 30 μm (Duff et al., 1995). Vytvořené stomatocysty jsou zpravidla větší než vegetativní buňka a jsou bezbarvé (Findenig et al., 2010). Stěna cysty vzniká postupným ukládáním křemíku, který tvoří vrstvy. Primární stěna je tenká a hladká. Toto je u většiny druhů chrysofyt stejné (Sandgren, 1989). Zralá cysta může být jak hladká, tak ornamentovaná různými jamkami, stroupky, rýhami. Některé stomatocysty tvoří charakteristické ostny nebo prstovité výrůstky. Kolem póru může být vytvořený límeček. Podrobnou terminologii používanou při popisů parametrů stomatocyst (Obr. 3 a 4) uvádí Katharine E. Duff v *Atlas of Chrysophycean Cysts* (1995). Vychází z terminologie vytvořené Cronbergovou a Sandgrenem (1986).

Hlavní parametr, kterým jsou rozlišovány druhy, je morfologie povrchu cysty a tvar límečku. Ale některé vlastnosti stomatocyst mohou být variabilní i mezi populacemi jednoho druhu. Roli zde hrají podmínky prostředí, ve kterých probíhá encystace. Jakými podmínkami a do jaké míry jsou ovlivněny různé parametry stomatocysty, zkoumal Sandgren (1983a) u druhu *Dinobryon cylindricum*. Dle jeho výsledků se mezi populacemi zdá být velmi konzervativní průměr stomatocyst. Hustota a morfologie ostnů, které zcela vyvinutou cystu *Dinobryon cylindricum* pokrývají, jsou určeny genotypem. Naopak délka ostnů a délka límečku je ovlivněna teplotou, které byly buňky vystaveny při encystaci. Průměr límečku je opět téměř neměnný a silně koreluje s průměrem cysty. Schopnost produkovat plně vyvinutou cystu je pravděpodobně dána rozmezím teploty, která je fyziologicky optimální pro buňky. U stomatocyst, které nebyly schopné dokončit vývoj, je ornamentace redukována, nebo úplně chybí. Příčinou je nedostatek energie, které je na kompletní ornamentaci potřeba. Fyziologicky stresované buňky totiž nejsou schopny ji účinně skladovat (Sandgren, 1983a).

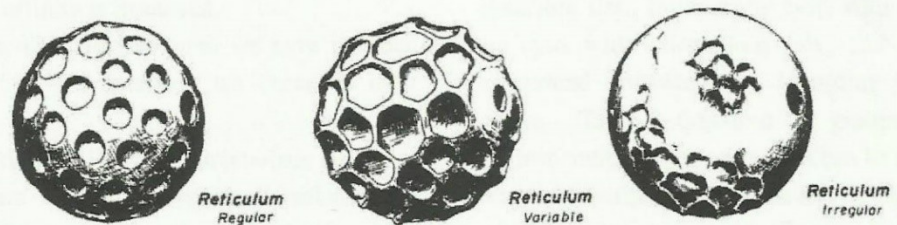
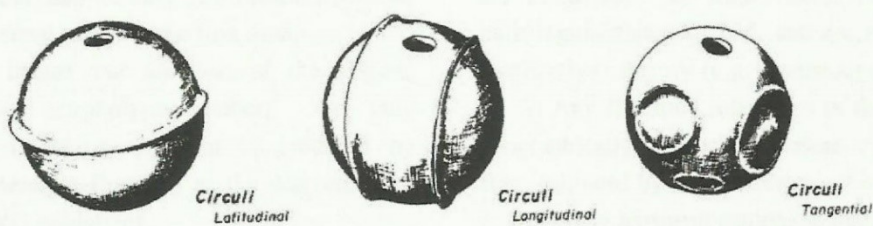
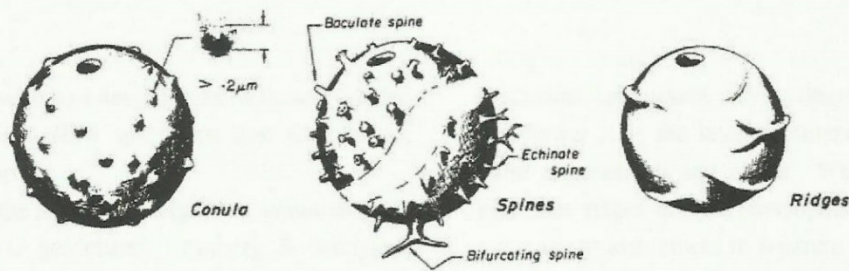
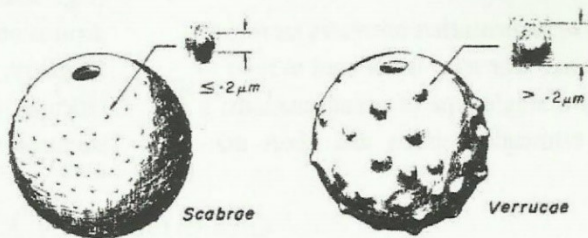


Obr. 3: Terminologie a parametry používané k popisu stomatocyst, (Duff et al., 1995).

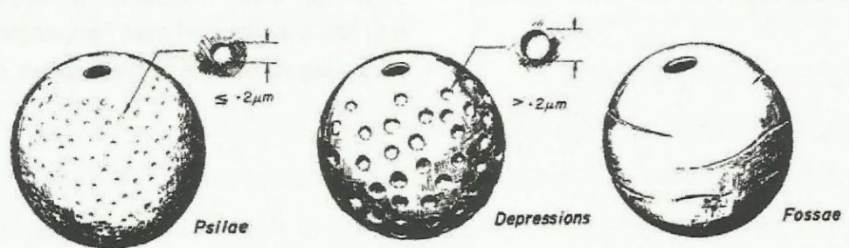
4 G

ORNAMENTATION

Projecting Elements



Indentations



Obr. 4: Terminologie používaná k popsání ornamentace povrchu stomatocyst (Duff et al., 1995).

4.2. Klasifikace stomatocyst

Doposud bylo pouze 5 % stomatocyst přiřazeno ke konkrétním druhům (Smol, 1988). V přírodě většinou nalezneme směsný vzorek s více druhy chrysofyt a již vytvořené cysty. Jen velmi vzácně se podaří zachytit buňku během encystace nebo excystace, a proto je velmi těžké přiřadit stomatocysty k druhů. Způsob, jakým by bylo možné cysty klasifikovat, je na základě jejich morfologie, která je druhově specifická. V rámci rodu můžeme nalézt stomatocysty se značně odlišnou ornamentací. Nicméně spousta druhů tvoří jednoduché hladké cysty, a i druhy vzdálených rodů mohou mít cysty vypadající velmi podobně či dokonce identicky. Tudíž morfologie stomatocyst nemůže být taxonomickým kritériem (Sandgren, 1983a, Cronberg, 1986; Findenig et al., 2010).

Z těchto důvodů byl vytvořen umělý systém klasifikace stomatocyst, ve kterém jsou cysty rozděleny do kategorií podle morfologických parametrů (popsaných na předcházejících obrázcích Obr. 3 a 4). Systém byl vytvořen skupinou International Statospore Working Group (ISWG), která zároveň vypracovala terminologii pro popis cyst (Cronberg & Sandgren 1986).

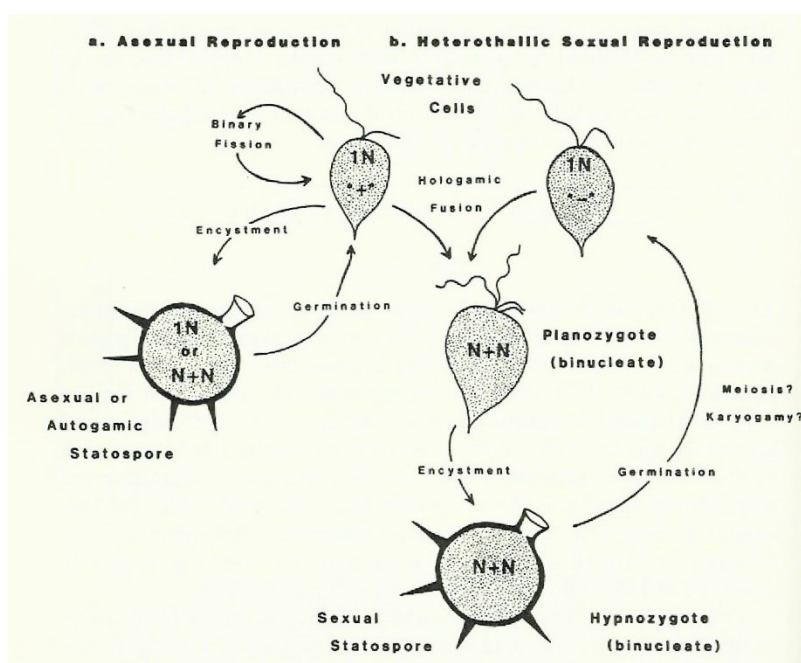
V tomto systému je každému morfotypu přiděleno číslo podle směrnic ISWG. U každého morfotypu je uvedeno jméno autora a originální publikace, ve které byl morfotyp popsán, biologická afinita (pokud je známá), lokalita výskytu a ekologie. Důležitou součástí je popis cysty pod světelným mikroskopem (LM) a elektronovým skenovacím mikroskopem (SEM). Uvedeny jsou také další reference (Duff et al. 1995).

5. Pohlavně a nepohlavně vzniklé cysty

Tvorba odolného stádia je nedílnou součástí životního cyklu chrysofyt. Zlativky tvoří populace vegetativních buněk pouze několik týdnů v roce, a to brzy po začátku jara. Poté velmi rychle mizí z vodního sloupce a většinu roku přečkávají ve formě cysty na dně jezera (Sandgren, 1988). Chrysofyta se dokáží rozmnožovat jak pohlavně, tak nepohlavně. V obou případech je výsledkem cysta, která vypadá identicky bez ohledu na to, který typ rozmnožování její tvorbě předcházela. Zlativky produkují tři typy stomatocyst: nepohlavní haploidní, nepohlavní diploidní a pohlavní diploidní cystu. Na základě laboratorních experimentů víme, že některé druhy jsou schopné tvořit nepohlavně i pohlavně vzniklé stomatocysty. Jelikož jsou tyto cysty morfologicky neodlišitelné, nelze u přírodních populací určit, jakou cestou vznikly (Sandgren, 1981; Sandgren & Flanagan, 1986; Sandgren, 1988; Sandgren, 1991).

5.1. Životní cyklus chrysofyt

Vegetativní buňky chrysofyt jsou haploidní. Ty se dělí a populace zlativek narůstá. Za určitých podmínek je u některých buněk vyvolána tvorba cysty. Stomatocysty jsou produkovány buď vegetativními buňkami, nebo jsou výsledkem autogamie. Takto vzniklé cysty mohou mít jedno nebo dvě jádra (Sandgren 1991). Další alternativa je, že se vegetativní buňky rozmnoží pohlavně a vznikne diploidní stomatocysta. Pohlavně se zlativky rozmnožují převážně heterotalicky. Splývají dva pohlavně kompatibilní buňky „+“ a „-“, vzniká čtyřbičíkatá planozygota, která žije krátce a následně encystuje (Sandgren, 1981). Výsledkem je

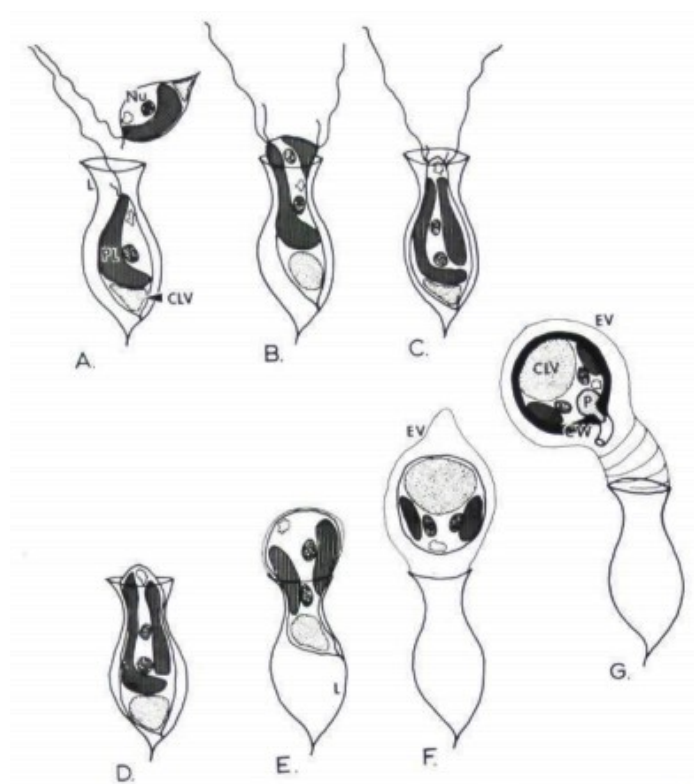


pohlavní diploidní stomatocysta, která je označována jako hypnozygota (Sandgren & Flanagan, 1986, Sandgren, 1991).

Obr. 5: Schéma zobecněného životního cyklu planktonních chrysofyt. Vlevo nepohlavní rozmnožování, vpravo pohlavní rozmnožování. Obě končí morfologicky identickou cystou (Sandgren, 1988).

5.2. Pohlavní vznik stomatocyst

Pohlavní encystace byla dobře prozkoumána u dvou druhů zlativek, *Synura petersenii* (Sandgren & Flanagan, 1986) a *Dinobryon cylindricum* (Sandgren, 1981). Pohlavní proces je heterotalický, přičemž splývají dva kompatibilní klony „+“ a „-“. Samičí klon vypouští do okolí hormon erogen a tím indukuje gametogenezi. Samčí gameta je volně pohyblivá buňka, u *Synura petersenii* se uvolní z kolonie, u *Dinobryon cylindricum* vylézá z loriky. Putuje k samičímu klonu a dojde ke splnutí obou gamet. Vzniká čtyř-bičíkatá planozygota, ta encystuje v diploidní hypnozygotu.



Obr. 6: Pohlavní rozmnožování *Dinobryon cylindricum*. Samičí buňka zůstává v lorice, zatímco samčí buňka opouští loriku a je volně pohyblivá. Dojde ke splnutí a vzniká diploidní zygospora (Sandgren, 1981).

U ostatních planktonních řas (obrněnky, rozsivky a chlorofytní řasy) je pohlavní rozmnožování zpravidla iniciováno jako reakce na nepříznivé podmínky prostředí, kdy jsou buňky zatíženy fyziologickým stresem a sexuální proces následovaný tvorbou odpočívajícího stádia představuje únik před snížením populace. U zlativek tomu tak není. Pohlavní encystace

je zde kontrolována endogenně a je přímo závislá na populační hustotě, přičemž je definován minimální počet buněk nutný pro zahájení sexuálního procesu a tvorby hypnozygoty (Sandgren & Flanagin, 1986; Sandgren, 1988). Konkrétně závisí na abundanci kompatibilních klonů. S velkou pravděpodobností je míra encystace i hranice minimálního počtu buněk pro zahájení pohlavního procesu druhově specifická, nebo dokonce kmenově (Sandgren, 1991). Vnější faktory ovlivňují pohlavně vzniklou encystaci pouze nepřímo skrze populační dynamiku, například vlivem zvýšené teploty. Ukázalo se, že změna vnějších podmínek k zahájení pohlavního procesu nestačí. Stejně tak se nepodařilo indukovat tvorbu zygospor nutričním stresem (Sandgren, 1981). Tedy zatímco ostatní fytoplankton se pohlavně encystuje v reakci na pokles populační hustoty, chrysofyta produkují zygosporu v průběhu aktivního růstu populace. Vytvořit cystu po pohlavním rozmnožování je schopno 5-30 % buněk z populace. Také bylo zjištěno, že pohlavní encystace je u zlativek mnohem více častá než nepohlavní (Sandgren, 1991).

5.3. Nepohlavní vznik stomatocyst

Z laboratorních experimentů a přírodních pozorování toho víme o encystaci vegetativních buněk, které nepřecházelo pohlavní rozmnožování velmi málo. Pravděpodobně tento proces probíhá u některých klonálních populací *Dinobryon*, *Mallomonas*, *Synura* a *Uroglena* (Sandgren, 1981, 1988). Avšak mnoho druhů nepohlavní cysty vůbec netvoří, nebo zatím neznáme podmínky, které encystaci spouští. Tento proces pravděpodobně není závislý na hustotě populace. Podařilo se navodit mírnou encystaci nutričním stresem u *Dinobryon cylindricum* (Sandgren, 1981). Předpokládá se, že encystace vegetativních buněk se vyskytuje v nestálých nebo nově vzniklých lokalitách, kde je malá diverzita pohlavně odlišně laděných klonů, mezi kterými by mohlo dojít k sexuálnímu rozmnožování s následnou tvorbou cysty (Sandgren, 1991).

6. Encystace a excystace chrysofyt

6.1. Proces encystace popsaný na základě elektronové mikroskopie

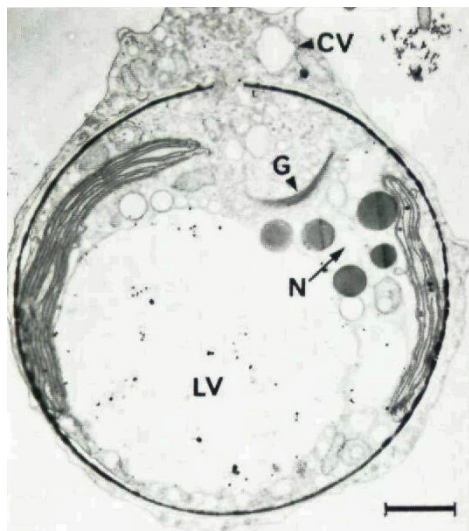
Buňka během encystace prochází strukturálními změnami, které nám dokázala odhalit až elektronová mikroskopie. Díky skenovací a transmisní elektronové mikroskopii (SEM a TEM) dnes dokážeme interpretovat, co se děje v buňce během tvorby cysty na ultrastrukturální úrovni a jak probíhá ukládání křemíku, aby vznikla plně vyvinutá cysta.

První náznaky jsou viditelné i pod světelný mikroskopem. Buňka, která se připravuje na encystaci, je nepohyblivá, téměř kulatá. Začíná se zvyšovat aktivita kontraktilních vakuol a občas lze těsně pod povrchem buňky vidět tenký obrys vznikající cysty (Hibberd, 1977).

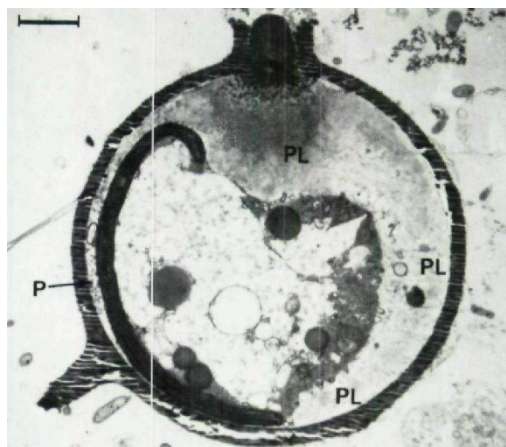
Proces encystace byl podrobně pozorován u *Ochromonas tuberculata*. Časné stádium tvorby cysty zahrnuje vytvoření váčku nesoucího SiO₂ (silica deposition vesicle – SDV). V tomto váčku dochází k ukládání křemíku a k formování cysty. V posteriorní části buňky se tvoří malé váčky, které pravděpodobně pochází z Golgiho aparátu. Ty se spojují do plochého váčku, který se začne rozšiřovat k anteriorní části buňky a obklopuje tak centrální cytoplazmu s organelami (Sandgren, 1989). Tento plochý váček se postupně rozšíří a pod povrchem vegetativní buňky vytvoří prostor, uzavřený dvěma membránami, mezi kterými se začne ukládat křemík. Nejdříve se vytvoří tenká primární stěna cysty, která je přerušena pouze pórem se začínajícím límečkem. Pór může být vytvořen i později tím, že se rozpustí primární stěna a vznikne kruhový otvor. V této fázi lze na TEM s určitostí rozlišit stěnu cysty od silicalemy (vnější membrána SDV váčku). Silicalema pak odstupuje více, jakmile se začnou tvořit ostny (pokud se jedná o morfotyp, který je má). Ostny nebo jiný typ ornamentace vznikají po tom, co je zformována celá cysta, ale ještě před tím, než dosáhne své konečné tloušťky. Cytoplazma, která zůstala vně cysty obsahuje mitochondrie, ribozomy, váčky a kontraktilní vakuoly. Po dobu encystace je stále aktivní. Všechny ostatní organely zůstávají uvnitř cysty a obklopuje je vnitřní silicalema, která bude po excystaci plnit funkci cytoplazmatické membrány buňky. Vnější a vnitřní cytoplazma je během formování cysty v kontaktu v místě póru do doby, než se vytvoří polysacharidová zátka. Ta může nebo nemusí obsahovat trochu křemíku. Jakmile se přeruší kontakt, vnější cytoplazma je odvržena (Hibberd, 1977, Sandgren, 1989).

Silifikace probíhá ve dvou fázích. První fáze probíhá rychle a tvoří se během ní primární tenká stěna cysty. Může trvat 15-60 minut. Druhá fáze je tloustnutí primární stěny (probíhá u

všech morfotypů) a tvorba ornamentace a límečku (pouze u některých morfotypů). Tato část procesu probíhá již pomaleji, 12-24 hodin (Sandgren, 1989).

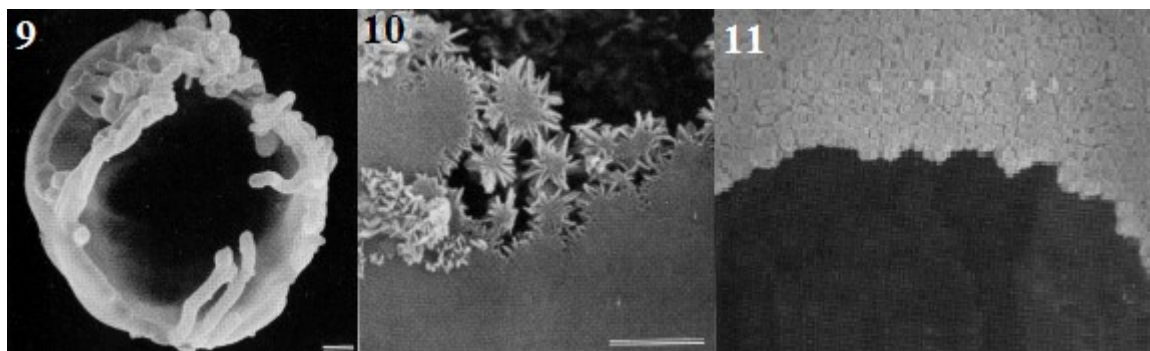


Obr. 7: Snímek z transmisního elektronového mikroskopu, první fáze silifikace stomatocysty *Ochromonas tuberculata*. Je vytvořena tenká stěna, vnitřní a vnější cytoplazma je stále v kontaktu, pór není uzavřen. Měřítka 2 μ m (Hibberd, 1977).



Obr. 8: Snímek z transmisního elektronového mikroskopu. Plně vytvořená cysta *Ochromonas tuberculata*. Vyvinuté ostny, límeček a pór je uzavřen zátkou. Měřítka 2 μ m (Hibberd, 1977).

Sandgren (1989) studoval vývoj stomatocyst pomocí skenovacího elektronového mikroskopu u osmi chrysofytních druhů. Na základě svého pozorování rozlišil tři modely silifikace v první fázi. Mohou se tvořit I) prodlužující se prstovité výběžky polymerizovaného křemíku (Obr. 9); nebo se utváří II) nepravidelné ploché úseky (Obr. 10), které se pak spojí. Poslední vzor III), který může předchodit dva doprovázet, je jemnozrnité přirůstání na okrajích (Obr. 11).



Obr. 9: První fáze vývoje cysty I). Polymerizující křemík tvoří prodlužující se prstovité výběžky. Snímek ze skenovacího elektronové mikroskopu. *Dinobryon cylindricum*, (Sandgren, 1989).

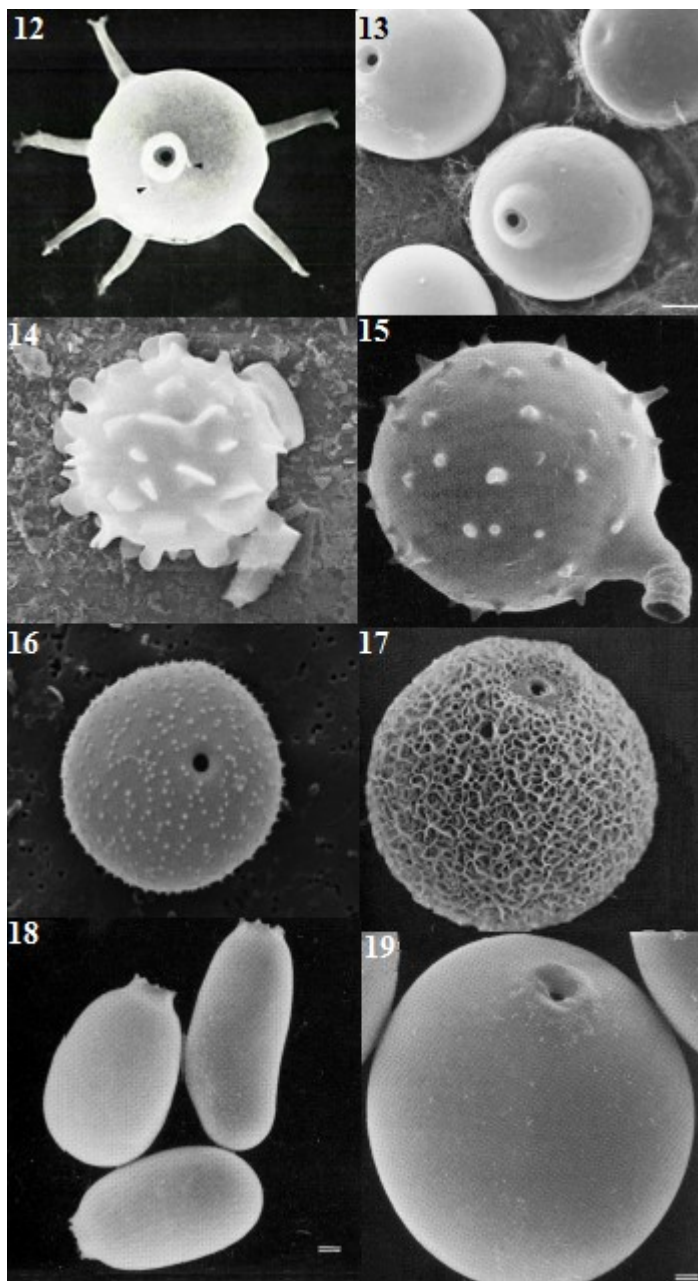
Obr. 10: První fáze vývoje cysty II). Nepravidelné ploché úseky polymerizujícího křemíku. Snímek ze skenovacího elektronového mikroskopu. *Synura curtispina* (Sandgren, 1989). **Obr.**

11: První fáze vývoje cysty III). Jemnozrnité přirůstání na okrajích primární stěny cysty. Snímek ze skenovacího elektronového mikroskopu. *Rhizopodiální zlativka* (Sandgren, 1989). U všech obrázků je měřítko 1 μm .

Podrobně popsána byla stádia tvorby cysty *Mallomonas intermedia* v SEM. Primární stěna je kompaktní vrstva mineralizovaného křemíku. Ve stěně se nacházejí drobné, kulaté otvory, které jsou rovnoměrně rozmístěné a mají průměr okolo 0,4 μm . Vyskytují se zde oblasti s menšími nepravidelnými otvůrkami. Mezi otvory se tvoří lamely, fungující jako přepážky. V tomto stádiu je cysta ještě nedozrálá a má strukturu včelí plástve. Při dozrávání se otvory uzavírají a kolem póru se začíná zvedat val budoucího límečku. Během formování límečku se uzavírají otvory ve stěně hrubou vrstvou křemíku a menší nepravidelné otvorů jsou ponechány otevřené (Skogstad, 1984).

Morfologii povrchové ornamentace a límečku je nutné studovat za pomoci skenovací elektronové mikroskopie. Jedná se totiž o jemné mikrostruktury, které mnohdy nejsou viditelné

pod světelným mikroskopem (Cronberg, 1980). V následující části je několik snímků stomatocyst, u kterých víme, ke kterému druhu patří.



Obr. 12: *Ochromonas tuberculata*, měřítko 10 μm (Hibberd, 1977). **Obr. 13:** *Ochromons* sp., 2 μm (Holen, 2014). **Obr. 14:** *Ochromonas pinguis*, měřítko 10 μm (Holen, 2014). **Obr. 15:** *Dinobryon cylindricum*, měřítko 1 μm (Sandgren, 1989). **Obr. 16:** *Dermatochrysis* sp., měřítko 1 μm (Holen, 2014). **Obr. 17:** *Mallomonas caudata*, měřítko 1 μm (Sandgren, 1989).

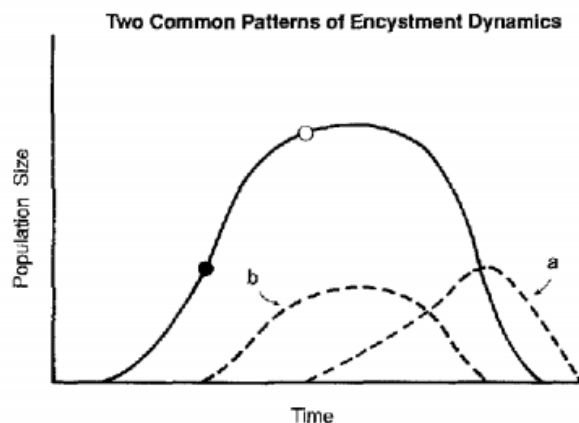
Obr. 18: *Mallomonas akrokomos*, měřítko 1 μm (Sandgren, 1989). **Obr. 19:** *Synura curtispina*, 1 μm (Sandgren, 1989).

6.2. Encystace a podmínky, které ji ovlivňují

U většiny planktonních řas a sinic je encystace vyvolána v důsledku fyziologického stresu, který je způsoben enviromentálními podmínkami (Sandgren, 1991). Potencionální faktory, které mohou encystaci navodit jsou: prodloužená nízká intenzita světla, přepnutí fotoperiody, razantní změny teploty ($> 5^\circ\text{C}$) a vyčerpání esenciálních živin (Levins, 1969).

Encystace u zlativek se zdá být indukována kombinací vnějších i vnitřních faktorů (Sandgren, 1981). Z předchozích kapitol vyplývá, že spouštěče encystace se liší podle toho, zda je cysta tvořena pohlavně či nepohlavně. Zatím nebyl objeven konkrétní faktor, který by encystaci spouštěl. U nepohlavní tvorby cysty se zdá být vývoj závislý na teplotě (Sheath et al., 1975, Cronberg, 1980, Sandgren, 1986) a na dostupnosti živin (Sandgren, 1981, 1991). Teplota má bezesporu vliv na populační dynamiku, a tím nepřímo ovlivňuje i početnost vytvořených cyst (Sandgren, 1988). Teplota také ovlivňuje ukládání křemíku. Pouze v optimálním rozmezí teploty se vytvoří kompletní ornamentace a límeček (Sandgren, 1983).

Doposud se nepodařilo se odhalit žádné vnější stresové faktory, které by indukovaly pohlavní rozmnožování s následnou encystací. Míra pohlavní encystace je přímo ovlivňována hustotou populace a dostatečnou abundancí pohlavně odlišně laděných buněk. Nutričním stresem lze pravděpodobně do jisté míry ovlivnit pohlavní encystaci u méně kompatibilních rozmnožujících se buněk. Některé tyto buňky totiž splývají ochotněji než jiné. Na základě experimentu, při kterém byly klonální populace vystaveny nedostatku esenciálních živin, bylo zjištěno, že nedostatek fosforu inhibuje tvorbu méně kompatibilních pohlavních cyst a nepohlavních cyst. Vyčerpání dusíku encystaci naopak posiluje. Fyziologický stres ale není podmínkou zahájení tvorby cysty u zlativek (Sandgren, 1981). Rozdílné modely dynamiky encystace jsou zobrazeny na následujícím grafu (Obr. 12). Zatímco většina planktonní řasy tvoří odolná stádia až poté, co dojde ke snížení abundance populace důsledkem fyziologického stresu (a), chrysofyta tvoří cysty již během aktivního populačního růstu (b) (Sandgren, 1991).



Obr. 20: Graf porovnávající dva různé modely dynamiky encystace fytoplanktonu. Plná čára znázorňuje populaci vegetativních buněk, přerušované čáry znázorňují dynamiku odpočívajících stádií. „b“ encystace závislá na hustotě populace, „a“ encystace způsobená fyziologickým stresem. Plná tečka vyznačuje minimální abundanci populace pro zahájení encystace závislé na hustotě populace (Sandgren, 1991).

Fidenigová et al. (2010) se zabývala taxonomií rodu *Spumella*. Autoři se pokusili indukovat tvorbu stomatocyst u několika linií. Cysty se objevily v kulturách, které pocházely z půdy a byly staré 1 týden. Dá se tedy předpokládat, že encystace je běžná v dočasných lokalitách.

6.3. Životaschopnost cyst a excystce

Jediný experiment zkoumající životaschopnost stomatocyst, provedl Sandgren (1981) na pohlavně vzniklých cystách *Dinobryon cylindricum*. Nechal stomatocysty uskladněné ve tmě, za přístupu kyslíku a při 4°C po různě dlouhou dobu. Postupem času jejich životaschopnost klesala. Po 1 roce zůstalo malé procento cyst životaschopných. Nicméně i v malém počtu jsou schopny obnovit populaci. Usuzuje se, že v přírodě mohou být stomatocysty životaschopné i několik desítek let, pokud jsou uloženy v sedimentu za anoxických podmínek (Cronberg, 1982).

Excystací se zabývalo velmi málo prací, tudíž o ní máme jen několik poznatků. Stomatocysty klíčí v jednu, dvě nebo čtyři vegetativní buňky v závislosti na proběhlé meiose a také na tom, o jaký druh zlativky se jedná (Sandgren, 1988). U *Dinobryon cylindricum* pozoroval excystaci Sheath (1975). V blízkosti póru se vytváří celulózní komůrka, do které se přemísť ze stomatocysty čtyři dceřiné buňky. V celulózní komůrce dokončují svůj vývoj a

následně unikají pórem ven. Excystace byla také pozorována u *Chromulina freiburgensis*, z jejíž stomatocysty excystovala jediná vegetativní buňka (Doflein, 1922) a u *Chromulina pascheri*, z jejíž cysty se uvolnily dvě nebo čtyři vegetativní buňky (Conrad, 1926).

Zatím se nepodařilo zjistit, který vnější faktor indukuje excystaci. Při excystaci pohlavně vzniklých stomatocyst *Dinobryon cylindricum* neměla teplota ani nutriční stres vliv. Světlo sice indukovalo excystaci, ale buňky byly schopné opouštět cystu i ve tmě. (Sandgren, 1986). Pouze několik málo buněk je schopných obnovit populaci, proto je potřeba, aby nastaly optimální podmínky spíš ve vodním sloupci než v sedimentu, kde jsou stomatocysty uchovány (Sandgren, 1988). Je možné, že se excystace řídí vnitřními biologickými hodinami v buňce.

7. Využití stomatocyst v paleoekologii

Stomatocysty jsou užitečný bioindikátor v paleolimnologii. Díky tomu, že se dobře zachovávají v sedimentu jezer, lze zpětně zkonstruovat klimatické podmínky v minulosti (Smol, 1988; Duff et al., 1995; Smol & Cumming, 2000). Stomatocysty mají pro využití v paleoekologii několik předpokladů. V sedimentu se chrysofytní cysty nacházejí ve velkém počtu a diverzitě, a jsou rezistentní vůči rozpuštění. Kromě toho mohou být analyzovány současně s jinými křemičitými mikrofosíliemi, jako jsou schránky rozsivek a chrysofytní šupiny (Duff et al., 1997). Typ sedimentu, ve kterém se nachází velký počet stomatocyst, se nazývá chrysopel. Šupiny chrysofyt se v paleoekologii využívají taktéž, ale neposkytují komplexní informaci o chrysofytních společenstev, protože šupiny tvoří pouze 20 % druhů, zatímco stomatocysty tvoří všechny druhy. Teoretickým nedostatkem je velké množství stomatocyst s neznámou biologickou afinitou. Pokud bychom byli schopni přiřadit je k druhům, řeklo by nám to více o jejich ekologii a rekonstrukce environmentálních podmínek by byla úplnější (Duff et al., 1995).

Zlativky jsou považovány za oligotrofní řasy, ale jednotlivé druhy se mohou v této charakteristice značně lišit (Cronberg, 1986). Výskyt chrysofyt koreluje s konduktivitou, salinitou a pH. Obvykle se vyskytují v jezer s hodnotami pH v rozmezí 4,5 – 8,5. S rostoucí konduktivitou a salinitou klesá diverzita druhů zlativek (Sadngren, 1988; Němcová et al., 2016). Největší diverzita a abundance populací chrysofyt byla sledována na Baltském moři těsně po roztání ledu, což je optimální doba pro růst populací zlativek. Voda měla v tomto období nízkou teplotu a nízkou salinitu.

Poměr stomatocyst ku schránkám rozsivek je používán k přibližnému určení trofického statusu jezer (rozsivky jsou nacházeny v eutrofním prostředí, chrysofyt v oligotrofním) (Smol, 1985). Stomatocysty jsou také nástrojem pro sledování klimatických změn. Ty se nejvíce promítají v polárních oblastech, kde jsou cysty používány jako měřítko ledového pokryvu jezer. Ledová a sněhová pokrývka mění výrazně vlastnosti jezera. Hlavní vliv má na míru a kvalitu světla, která je dostupná pro fytoplankton. V chladných letech, kdy jsou jezera zamrzlá prosperují druhy zlativek, které se vyskytují u hladiny. V teplém období, kdy je hladina dobře propustná pro sluneční paprsky, prosperují druhy, které preferují větší hloubku. Také se měří totální abundance řas v sedimentu (Smol, 1988). Vzhledem k tomu, že se zlativky pohlavně rozmnožují a encystují za aktivního růstu populace, jsou stomatocysty indikátorem spíše optimálních podmínek než nepříznivých (Sandgren, 1991).

8. Studium silifikace, PDMPO

Studium silifikace je jeden z možných směrů, kterým by se mohla ubírat moje budoucí diplomová práce. V této oblasti bylo v posledních letech učiněno mnoho pokroků. Příkladem je používání fluorescenčního značení PDMPO pro studium biomineralizace křemíku v organismech. Většina experimentů byla provedena na rozsivkách, které se ukázaly být vhodným modelovým organismem, a které mají velký význam v ekologii, jelikož hrají zásadní roli v koloběhu křemíku a uhlíku (Yool & Tyrrell, 2003). V rámci svého životního cyklu si rozsivky tvoří dvoudílnou křemičitou schránku, která se nazývá frustula. Oba díly do sebe zapadají podobně jako Petriho miska a mohou být různě strukturované. Schránka je tvořena v SDV váčku (analogický k SDV váčku zlativek) biogenním křemíkem (Pickett-Heaps, 1990). PDMPO (2-(4-pyridyl)-5-((4-(2-methylaminoethylaminocarbamoyl)methoxy)phenyl)oxazole) se selektivně váže na polymerizující křemík. Excitovaný UV zářením emituje silnou zelenou fluorescenci všude tam, kde je nově uložený křemík (Shimizu et al., 2001). Lze tak zjistit, které rozsivky aktivně ukládají křemík, a které nikoliv. PDMPO bylo použito při zkoumání vlivu environmentálních podmínek na tvorbu schránky rozsivek (Znachor & Nedoma, 2008) a při zjišťování, jakou roli hraje cytoskelet při formování schránky (Tesson & Hildebrand, 2010). Aplikování PDMPO nám tedy umožňuje pochopit, jakým způsobem rozsivky využívají křemík.

PDMPO selektivně označuje nově polymerizovaný křemík a je velmi efektivní. Nově uložený křemík je možné detekovat již po pár hodinách inkubace. PDMPO neovlivňuje růst rozsivek ani ukládání křemíku. Standardně je doporučovaná koncentrace 0,125 μM a inkubace 24 hodin. Ale experimentálně bylo zjištěno, že PDMPO nepůsobí negativně po 48 hodinách při jakékoliv koncentraci. První známky poklesu počtu buněk byly pozorovány až při 96 hodinách inkubace a čtyřnásobné koncentraci (Leblanc & Hutchins, 2005).

Lze usuzovat, že by bylo možné použít tuto fluorescenční sondu pro označování nově ukládaného křemíku při tvorbě stomatocysty u zlativek. Aplikace PDMPO by mohla umožnit sledování dynamiky tvorby cysty a detekovat polymerizovaný křemík při jednotlivých fázích tvorby stěny cysty a ornamentace.

9. Závěr

Rezistentní odpočívající stádium je nedílnou součástí životního cyklu některých řas. Neumožňuje pouze uniknout buňkám před nepříznivými podmínkami, ale jelikož je často výsledkem pohlavního rozmnožování, je v těchto případech zdrojem genetické variability. Cysty, díky své odolnosti, poskytují řasám evoluční výhodu. Pravidelnou tvorbu cyst můžeme nalézt u řas se sezonním výskytem, jako jsou např. zlativky.

Zlativky se hojně vyskytují ve fytoplanktonu jezer s nízkou produktivitou a tvoří abundantní populace pouze několik týdnů v roce. Po zbytek roku jsou uloženy v sedimentu ve formě cyst. Jejich odpočívající stádium jsou křemičité stomatocysty, které mají unikátní morfologii. Stomatocysty jsou kulovitého nebo oválného tvaru, mají jeden terminální pór, který je obklopen límečkem. Na povrch může být stomatocysta různě ornamentovaná, hladká, nebo mít ostny. Tyto morfologické znaky jsou do jisté míry druhově specifické. Průměr cysty a typ ornamentace je dán genotypem. Délka ostnů (pokud se vyskytují) a délka límečku je ovlivněna vnějšími podmínkami (teplota, nutriční stres). Bohužel se u většiny cyst neví, k jakému druhu náleží. Proto byl vytvořen umělý systém, kde jsou stomatocysty klasifikovány podle morfotypů a jsou jim přidělena jedinečná čísla doplněná citací příslušného článku.

Stomatocysty jsou velmi variabilním odolným stádiem. Jsou buď haploidní, nebo diploidní. Mohou vzniknout po pohlavním rozmnožování, nepohlavní rozmnožování nebo autogamií. Spouštěčem pohlavního rozmnožování nejsou vnější podmínky, jak je to u jiných řas. Je zapotřebí dvou kompatibilních klonů daného druhu. Ochota k pohlavnímu rozmnožování závisí na hustotě populace a dostatečném počtu kompatibilních klonů. Nepohlavní rozmnožování lze pravděpodobně alespoň u některých druhů navodit nutričním stresem.

Díky elektronové mikroskopii skenovací a transmisní elektronové mikroskopii bylo možné pozorovat dynamiku tvorby cysty a způsob ukládání křemíku. Stomatocysta vzniká v SDV váčku a prochází dvěma fázemi. V první fázi je vyvářena tenká stěna cysty, v druhé fázi se tvoří ornamentace, límeček a primární stěna tloustne. Pór se v konečné části procesu uzavírá organickou zátkou. Samotnou encystaci ovlivňují nejasné podmínky. Encystaci i excystaci pravděpodobně spouští kombinace faktorů prostředí a vnitřních podnětů. V této oblasti toho o stomatocystách příliš nevíme.

Stomatocysty jsou používány v paleoekologii jako nástroj pro rekonstrukci klimatických podmínek v minulosti. Spolu s rozsivkami určují trofický status jezer. V polárních oblastech se používají jako měřítko pro ledový pokryv jezer.

O stomatocystách toho zatím mnoho nevíme, dosavadní studie generují další otázky, na které je třeba hledat odpovědi. Proto má toto téma pro biology veliký potenciál. Dodnes není příliš jasné, co indukuje nepohlavní encystaci. Nevíme, do jaké míry jsou stomatocysty rezistentní vůči vyschnutí, drastickým změnám teplot a pH. Kromě toho je tu velké množství stomatocyst bez známé biologické afinity. Nový způsob zkoumání tvorby cyst například umožňuje fluorescenční barvení PDMPO, díky kterému by bylo možné získat nový pohled na průběh silifikace stomatocyst. Barvení PDMPO umožní efektivní a metodicky jednoduché sledování silifikace u více druhů, jak ukázaly předběžné experimenty.

10. Literatura

- Adam, D. P., and A. D. Mahood. Chrysophyte cysts as potential environmental indicators. Geological Society of America Bulletin 92.11 (1981): 839-844.
- Andersen, R. A., and T. J. Mulkey. The occurrence of chlorophylls c1 and c2 in the Chrysophyceae1. Journal of phycology 19.3 (1983): 289-294.
- Andersen, R. A. Synurophyceae classis nov., a new class of algae. American journal of botany (1987): 337-353.
- Andersen, R. A., Y. Van de Peer, D. Potter, J. P. Sexton., M. Kawachi, and T. LaJeunesse. Phylogenetic analysis of the SSU rRNA from members of the Chrysophyceae. Protist 150.1 (1999): 71-84.
- Cavalier-Smith, T., and E. EY Chao. Phylogeny and megasystematics of phagotrophic heterokonts (kingdom Chromista). Journal of molecular evolution 62.4 (2006): 388-420.
- Collins, R. P., and K. Kalnins. Analysis of the free amino acids in *Synura petersenii*. Phytton Vicente Lopez (1972): 89-94.
- Conrad, W. Recherches sur les flagellates de nos eaux saumâtres. II. Chrysomonadines. Archiv für Protistenkunde 56 (1926): 167-231.
- Cronberg, G. Cyst development in different species of *Mallomonas* (Chrysophyceae) studied by scanning electron microscopy. Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes (1980): 421-434.
- Cronberg, G. Phytoplankton changes in lake Trummen induced by restoration: long-term whole-lake studies and food-web experiments. Bloms Boktryckeri AB, 1982.
- Cronberg, G. Blue-green algae, green algae and chrysophyceae in sediments. Wiley, 1986.
- Cronberg, G., and C. D. Sandgren. A proposal for the development of standardized nomenclature and terminology for chrysophycean statospores. Chrysophytes: aspects and problems. Cambridge University Press, Cambridge (1986): 317-328.
- Davis, C. O., J. T. Hollibaugh, D. L. R. Seibert, W. H. Thomas, and P. J. Harrison. Formation of resting spores by *Leptocylindrus danicus* (Bacillariophyceae) in a controlled experimental ecosystem 1. Journal of Phycology (1980): 296-302.

- Davis, J. S. Survival records in the algae, and the survival role of certain algal pigments, fat, and mucilaginous substances. *Biologist* (1972): 52-93.
- Doflein, F. Untersuchungen über Chrysomonadinen. *Arch. Protistenk* 44 (1922): 149-213.
- Duff, K. E., B. A. Zeeb, and J. P. Smol. Atlas of chrysophycean cysts. *Developments Hydrobiology* 99: 1-189. (1995).
- Duff, K. E., B. A. Zeeb, and J. P. Smol. Chrysophyte cyst biogeographical and ecological distributions: a synthesis. *Journal of biogeography* 24.6 (1997): 791-812.
- Eren, J. Studies on development cycle of *Peridinium cinctum f. westii*. *Verh. Internat. Verein. Limnol* 17 (1969): 1013-1016.
- Findenig, B. M., A. Chatzinotas, and J. Boenigk. Taxonomic and ecological characterization of stomatocysts of *spumella*-like flagellates (Chrysophyceae) 1. *Journal of Phycology* 46.5 (2010): 868-881.
- Fritsch, F. E. The structure and reproduction of the algae. At The University Press; Cambridge, 1948.
- Fryxell, G. A. Survival strategies of the algae. CUP Archive, 1983.
- Hibberd, D. J. Ultrastructure of cyst formation in *Ochromonas tuberculata* (Chrysophyceae). *Journal of Phycology* 13.4 (1977): 309-320.
- Holen, D. A. Mixotrophy in two species of *Ochromonas* (Chrysophyceae). *Nova Hedwegia Beiheft* 136 (2010): 153-165.
- Holen, D. A. Chrysophyte stomatocyst production in laboratory culture and descriptions of seven cyst morphotypes. *Phycologia* 53.5 (2014): 426-432.
- Kristiansen, J., and P. Škaloud. Chrysophyta. *Handbook of the Protists* (2016): 1-38.
- Leblanc, K., and D. A. Hutchins. New applications of a biogenic silica deposition fluorophore in the study of oceanic diatoms. *Limnology and Oceanography: Methods* 3.10 (2005): 462-476.
- Lee, R. E. *Phycology*. Cambridge University Press, 2008.
- Levins, R. Dormancy as an adaptive strategy. *Symposia of the Society for Experimental Biology*. Vol. 23. 1969.

- McQuoid, M. R., and L. A. Hobson. Importance of resting stages in diatom seasonal succession. *Journal of phycology* 31.1 (1995): 44-50.
- McQuoid, M. R., and L. A. Hobson. Diatom resting stages. *Journal of Phycology* 32.6 (1996): 889-902.
- Němcová, Y., M. Pusztai, M. Škaloudová, and J. Neustupa,. Silica-scaled chrysophytes (Stramenopiles, Ochrophyta) along a salinity gradient: a case study from the Gulf of Bothnia western shore (northern Europe). *Hydrobiologia* 764.1 (2016): 187-197.
- Patterson, D. J. Stramenopiles: chromophytes from a protistan perspective. *The chromophyte algae: problems and perspectives*. (1989): 357-379.
- Pickett-Heaps, J. The cell biology of diatom valve formation. *Prog. Phycol. Res.* 7 (1990): 1-168.
- Rengefors, K., and D. M. Anderson. Environmental and endogenous regulation of cyst germination in two freshwater dinoflagellates. *Journal of Phycology* 34.4 (1998): 568-577.
- Rengefors, K., I. Karlsson, and L. A. Hansson. Algal cyst dormancy: a temporal escape from herbivory. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 265.1403 (1998): 1353-1358.
- Reynolds, C. S. *The ecology of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press, 1984.
- Sandgren, C. D. Characteristics of sexual and asexual resting cyst (statospore) formation in *Dinobryon cylindricum* Imhof (Chrysophyta). *Journal of Phycology* 17.2 (1981): 199-210.
- Sandgren, C. D. Survival strategies of chrysophycean flagellates: Reproduction and the formation of resistant resting cysts. (1983).
- Sandgren, C. D. Morphological variability in populations of chrysophycean resting cysts. i. genetic (interclonal) and encystment temperature effects on morphology¹. *Journal of Phycology* 19.1 (1983a): 64-70.
- Sandgren, C. D. Effects of environmental temperature on the vegetative growth and sexual life history of *Dinobryon cylindricum* Imhof. (1986).

- Sandgren, C. D., and Joseph Flanagin. Heterothallic sexuality and density dependent encystment in the chrysophycean alga *Synura petersenii* Korsh. 1. Journal of phycology 22.2 (1986): 206-216.
- Sandgren, C. D. The ecology of chrysophyte flagellates: their growth and perennation strategies as freshwater phytoplankton. Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton. Cambridge University Press, Cambridge 9 (1988): 104.
- Sandgren, C. D. SEM investigations of statospore (stomatocyst) development in diverse members of the Chrysophyceae and Synurophyceae. Nova Hedwigia Beih 95 (1989): 45-69.
- Sandgren, C. D. Chrysophyte reproduction and resting cysts: a paleolimnologist's primer. Journal of Paleolimnology 5.1 (1991): 1-9.
- Scoble, J. M., and T. Cavalier-Smith. Scale evolution in Paraphysomonadida (Chrysophyceae): sequence phylogeny and revised taxonomy of *Paraphysomonas*, new genus *Clathromonas*, and 25 new species. European journal of protistology 50.5 (2014): 551-592.
- Sheath, R. G., J. A. Hellebust, and T. Sawa. The statospore of *Dinobryon divergens* Imhof: Formation and germination in a subarctic lake. Journal of Phycology 11.2 (1975): 131-138.
- Shimizu, K., Y. Del Amo, M. A. Brzezinski, G. D. Stucky, and D. E. Morse. A novel fluorescent silica tracer for biological silicification studies. Chemistry & biology 8.11 (2001): 1051-1060.
- Skogstad, A. Vegetative cells and cysts of *Mallomonas intermedia* (Mallomonadaceae, Chrysophyceae). Nordic journal of botany 4.2 (1984): 275-278.
- Smol, J. P. The ratio of diatom frustules to chrysophycean statospores: a useful paleolimnological index. Hydrobiologia 123.3 (1985): 199-208.
- Smol, J. P. Chrysophycean microfossils in paleolimnological studies. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology 62.1-4 (1988): 287-297.
- Smol, J. P., and Brian F. Cumming. Tracking long-term changes in climate using algal indicators in lake sediments. Journal of Phycology 36.6 (2000): 986-1011.

- Tesson, B., and M. Hildebrand. Extensive and intimate association of the cytoskeleton with forming silica in diatoms: control over patterning on the meso-and micro-scale. *PLoS One* 5.12 (2010): e14300.
- Wilkinson, A. N., B. A. Zeeb, and J. P. Smol. *Atlas of Chrysophycean Cysts-Vol II*. (2001).
- Yool, A., and T. Tyrrell. Role of diatoms in regulating the ocean's silicon cycle. *Global Biogeochemical Cycles* 17.4 (2003).
- Zhang, X., M. M. Watanabe, and I. Inouye. Light and electron microscopy of grazing by *Poterioochromonas malhamensis* (Chrysophyceae) on a range of phytoplankton taxa1. *Journal of Phycology* 32.1 (1996): 37-46.
- Zhang, X., and M. M. Watanabe. Grazing and growth of the mixotrophic chrysomonad *Poterioochromonas malhamensis* (Chrysophyceae) feeding on algae. *Journal of Phycology* 37.5 (2001): 738-743.
- Znachor, P., and J. Nedoma. Application of the PDMPO technique in studying silica deposition in natural populations of *Fragilaria crotonensis* (Bacillariophyceae) at different depths in a eutrophic reservoir. *Journal of phycology* 44.2 (2008): 518-525.